

FR2792942A1: CYCLODEXTRINES AMPHIPHILES, LEUR PREPARATION ET LEUR UTILISATION POUR SOLUBILISER DES SYSTEMES ORGANISES ET INCORPORER DES MOLECULES HYDROPHOBES

Derwent Title: New amphiphilic cyclodextrin derivatives useful for preparing membrane-permeating inclusion complexes of hydrophobic compounds, e.g. drugs, cosmetic ingredients and contrast agents [\[Derwent Record\]](#)

Country: FR France

Kind: A1 Application, First Publication¹ (See also: [FR2792942B1](#))

Inventor: AUZELY VELTY RACHEL;
PERLY BRUNO;
DJEDAINI PILARD FLORENCE;

Assignee: COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE France
[News, Profiles, Stocks and More about this company](#)

Published / Filed: 2000-11-03 / 1999-04-29

Application Number: FR1999000005460

IPC Code: IPC-7: [A61K 9/127](#); [A61K 47/40](#); [A61K 47/48](#); [C08B 37/16](#);

ECLA Code: [A61K9/107D](#); [A61K9/127B](#); [A61K9/51](#); [A61K47/48W18B](#); [C08B37/00M2B](#);

Priority Number: 1999-04-29 [FR1999000005460](#)

INPADOC Legal Status: None

Get Now: [Family Legal Status Report](#)

Designated Country: EP JP US



High
Resolution

①②

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②② Date de dépôt : 29.04.99.

③③ Priorité :

④③ Date de mise à la disposition du public de la
demande : 03.11.00 Bulletin 00/44.

⑤⑥ Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du
présent fascicule*

⑥① Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

⑦① Demandeur(s) : COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATO-
MIQUE Etablissement de caractère scientifique techni-
que et industriel — FR.

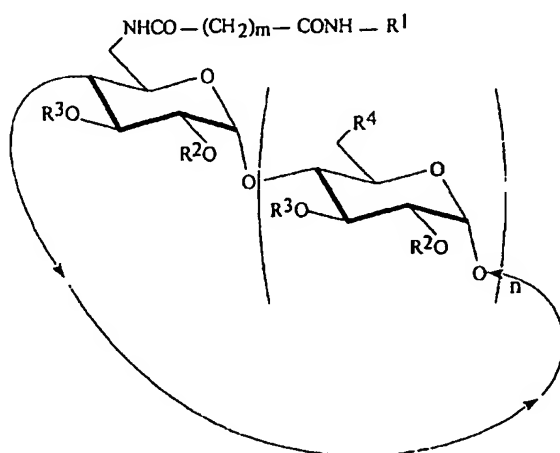
⑦② Inventeur(s) : AUZELY VELTY RACHEL, PERLY
BRUNO et DJEDAINI PILARD FLORENCE.

⑦③ Titulaire(s) :

⑦④ Mandataire(s) : BREVATOME.

⑤④ CYCLODEXTRINES AMPHIPHILES, LEUR PREPARATION ET LEUR UTILISATION POUR SOLUBILISER DES
SYSTEMES ORGANISES ET INCORPORER DES MOLECULES HYDROPHOBES.

⑤⑦ L'invention concerne des dérivés de cyclodextrine de
formule:



dans laquelle:
- R¹ représente un groupe dérivé d'un stéroïde,
- R² représente un groupe alkyle ou aryle éventuelle-
ment substitué,
- R³ représente H ou R²,
- tous les R⁴ représentent OR², ou l'un des R⁴ représen-
te -NHCO (CH₂)_mCONHR¹.
Ces dérivés permettent d'assurer le transport de molé-
cules hydrophobes pour des applications pharmaceutiques
ou cosmétiques, en formant des systèmes organisés en mi-
lieu aqueux, seuls ou avec des phospholipides.



CYCLODEXTRINES AMPHIPHILES, LEUR PREPARATION ET LEUR
UTILISATION POUR SOLUBILISER DES SYSTEMES ORGANISES ET
INCORPORER DES MOLECULES HYDROPHOBES.

DESCRIPTION

5 **Domaine technique**

La présente invention a pour objet de nouveaux dérivés de cyclodextrines, utilisables en particulier pour l'incorporation en milieu aqueux de composés chimiques hydrophobes tels que des molécules
10 pharmaceutiquement actives, des molécules à applications cosmétiques et des molécules utilisées comme agents de contraste pour l'imagerie médicale.

De façon plus précise, elle concerne des dérivés amphiphiles de cyclodextrines présentant des
15 propriétés d'auto-organisation en milieu aqueux et étant susceptibles de s'incorporer dans des systèmes de tensioactifs organisés conduisant à la formation de systèmes mixtes.

Cette incorporation dans des systèmes de
20 tensioactifs organisés tels que des petites vésicules de phospholipides, est destinée à permettre le transport de molécules hydrophobes incluses dans la cyclodextrine, par exemple d'un principe actif, en particulier par voie transmembranaire, par exemple
25 transdermique.

État de la technique antérieure

Les cyclodextrines ou cyclomaltooligosaccharides sont des composés d'origine naturelle formés par l'enchaînement de 6, 7 ou 8 unités glucose liées en α -1 \rightarrow 4. De nombreux travaux ont montré que ces composés pouvaient former des complexes d'inclusion avec des molécules hydrophobes permettant ainsi leur solubilisation dans des milieux aqueux. De nombreuses applications ont été proposées pour tirer profit de ce phénomène, en particulier dans le domaine pharmaceutique, comme il est décrit par D. Duchêne, dans « Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins », paru dans « Cyclodextrins and their industrial uses », Editions de Santé, Paris 1987, pp. 213-257 [1]. Des compositions pharmaceutiques utilisant des cyclodextrines ont déjà été commercialisées au Japon, en Italie et plus récemment en France, par exemple par Pierre Fabre Médicament pour le Brexin® qui est un complexe d'inclusion du Piroxicam dans la β -cyclodextrine.

Parmi les cyclodextrines utilisables, la β -cyclodextrine (comportant 7 unités glucose), est la plus adaptée au niveau de la taille de sa cavité et la moins chère des trois. Des modifications chimiques de la β -cyclodextrine ont été décrites afin de la rendre amphiphile dans le but de l'incorporer à des systèmes organisés.

Ainsi, des cyclodextrines amphiphiles portant de multiples chaînes sur la face primaire ont été étudiées. A. Yabe et coll ont décrit dans « Thin

Solid Films, (1988), 160, pp. 33-41 [2], le dérivé *per*(6-dodécylamino-6-désoxy)- β -cyclodextrine afin de former des couches de Langmuir-Blodgett stables. De même, L. Jullien et coll ont décrit dans J. Chem. Soc. Perkin Trans 2, 1993, pp. 1011-1022 [3], des dérivés de β -cyclodextrine comportant des chaînes aliphatiques situées en positions primaires et secondaires, en vue d'incorporer ces dérivés de cyclodextrines dans des vésicules de phosphatidylcholine. Ces dérivés sont amphiphiles et peuvent être incorporés dans les vésicules, mais la cavité interne de la cyclodextrine n'est plus accessible en raison du fort encombrement stérique des chaînes aliphatiques. Par conséquent, ces dérivés sont incapables d'inclure des molécules hydrophobes, en particulier des molécules de principe actif.

Récemment, il a été montré par A. Gulik et coll dans Langmuir (1998), 14, pp. 1050-1057 [4], que des cyclodextrines dites à « jupes », portant des chaînes d'acides gras greffées sur les hydroxyles secondaires pouvaient former des nanosphères stables. Ces super-assemblages moléculaires semblent présenter des propriétés d'encapsulation et de relargage très prometteuses en raison des effets cumulatifs de la spécificité de taille et de transport des cyclodextrines, d'une part, et d'organisation des nanoparticules, d'autre part. Toutefois, il faut souligner que la synthèse et surtout la purification de telles cyclodextrines restent très difficiles et nécessitent de longues étapes de purification conduisant à de faibles rendements. Il est évident que

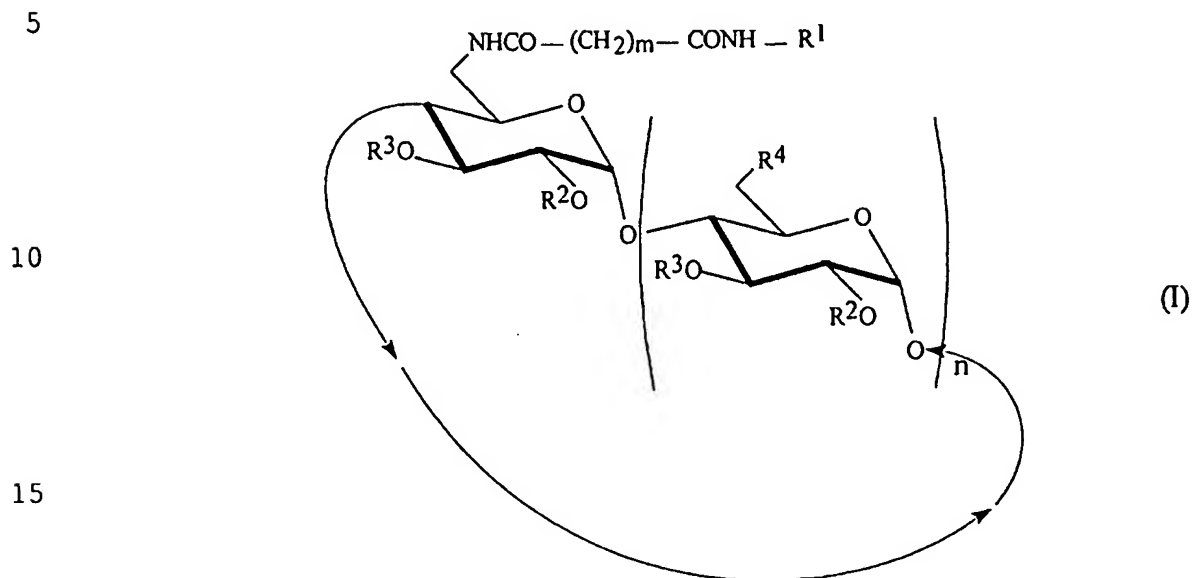
les propriétés d'organisation supramoléculaire sont drastiquement liées à la pureté chimique des dérivés de cyclodextrines amphiphiles.

J. Lin et coll ont décrit dans
5 FR-A-2 736 056 [5] et dans J. Chem. Soc. Perkin Trans
2, (1998), pp. 2638-2646 [6], la synthèse de dérivés de
cyclodextrines appelées « Bilboquets » comportant une
ou plusieurs chaînes aliphatiques leur conférant des
propriétés amphiphiles sans conduire pour autant au
10 phénomène d'auto-inclusion de la ou des chaînes dans la
cyclodextrine. De ce fait, on peut obtenir à partir de
tels dérivés des complexes d'inclusion contenant une
molécule hydrophobe et l'incorporation de ces complexes
dans des vésicules phospholipidiques. Toutefois, ces
15 molécules se sont révélées peu stables en milieu
physiologique, soit à des pH égaux et supérieurs à 7,
et leurs capacités d'incorporation dans des systèmes
organisés restent limitées. De plus, ces molécules
Bilboquets ne s'auto-organisent pas spontanément en
20 milieu aqueux pour donner des particules de taille et
de forme bien définies.

Exposé de l'invention

La présente invention a précisément pour
objet des dérivés amphiphiles de cyclodextrines,
25 stables en milieu physiologique, susceptibles d'inclure
des composés hydrophobes, ayant de bonnes capacités
d'incorporation dans des systèmes organisés et
présentant de plus des propriétés d'auto-organisation
en milieu aqueux.

Selon l'invention, le dérivé amphiphile de cyclodextrine répondant à la formule :



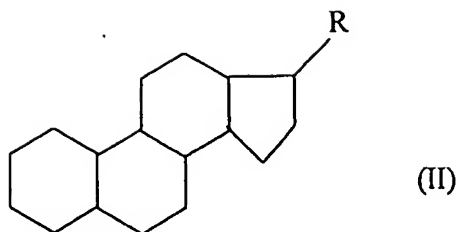
dans laquelle :

- R^1 représente un groupe dérivé d'un stéroïde,
- 20 - R^2 représente un groupe alkyle ou aryle éventuellement substitué,
- R^3 représente H ou R^2 ,
- tous les R^4 représentent OR^2 , ou
- l'un des R^4 représente $-NHCO(CH_2)_mCONHR^1$ et les autres
- 25 R^4 représentent OR^2 à condition qu'il y ait au moins une unité glucose avec R^4 représentant OR^2 entre les deux unités glucose comportant le substituant $-NHCO-(CH_2)_m-CONH-R^1$,
- m est un nombre entier allant de 1 à 8, et
- 30 - n est égal à 5, 6 ou 7.

On rappelle que les stéroïdes sont des composés dérivant d'un noyau polycyclique de formule :

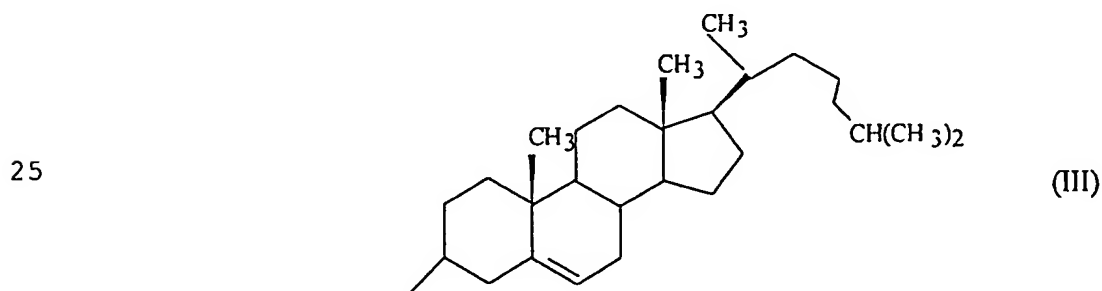
6

5



dans laquelle R représente un groupe hydrocarboné
 10 linéaire ou ramifié de 1 à 9 atomes de carbone, et
 dans lesquels le noyau polycyclique peut comporter une
 ou plusieurs doubles liaisons, et un ou plusieurs
 substituants choisis parmi CH_3 , OH et O, sur un ou
 plusieurs atomes de carbone des cycles

15 Dans le dérivé de cyclodextrine de
 l'invention, R^1 peut représenter un groupe dérivé des
 stéroïls par élimination du groupe hydroxyle du premier
 cycle, ayant un degré d'insaturation de 0 à 6. Il peut
 s'agir aussi de groupes dérivés de stérones. Par
 20 exemple R^1 peut représenter un groupe dérivé du
 cholestérol tel que le groupe de formule :



30 Dans le dérivé de l'invention, on obtient
 les propriétés amphiphiles grâce à la présence d'un ou

deux substituants comportant un groupe dérivé d'un stéroïde.

Lorsque le dérivé comporte deux substituants de ce type, il est nécessaire qu'ils ne se trouvent pas sur deux unités glucose adjacentes de la cyclodextrine, en raison de leur encombrement.

Aussi, les deux unités glucose comportant ces substituants sont séparées par une ou deux unités glucose ayant un substituant OR^2 .

De préférence, le dérivé de cyclodextrine ne comporte qu'un seul substituant de ce type, tous les R^4 représentant OR^2 .

Dans le dérivé de cyclodextrine de l'invention, le groupe R^2 représente un groupement alkyle linéaire ou ramifié ou aryle, éventuellement substitué. Lorsque l'on utilise un groupe alkyle, celui-ci a généralement de 1 à 4 atomes de carbone et il est de préférence linéaire. Le groupe aryle peut être par exemple le groupe phényle ou le groupe benzyle. Les substituants éventuels de ces groupes alkyle ou aryle peuvent être par exemple des atomes d'halogènes et des groupes hydroxyle, carboxyle et amine. Avantageusement, R^2 représente le groupe méthyle.

R^3 peut représenter un atome d'hydrogène ou un groupe alkyle identique ou différent de R^2 . De préférence, R^3 représente H.

Dans la formule (I) donnée ci-dessus, la chaîne aliphatique reliant le groupe dérivé d'un stéroïde à l'unité glucose peut comporter entre les

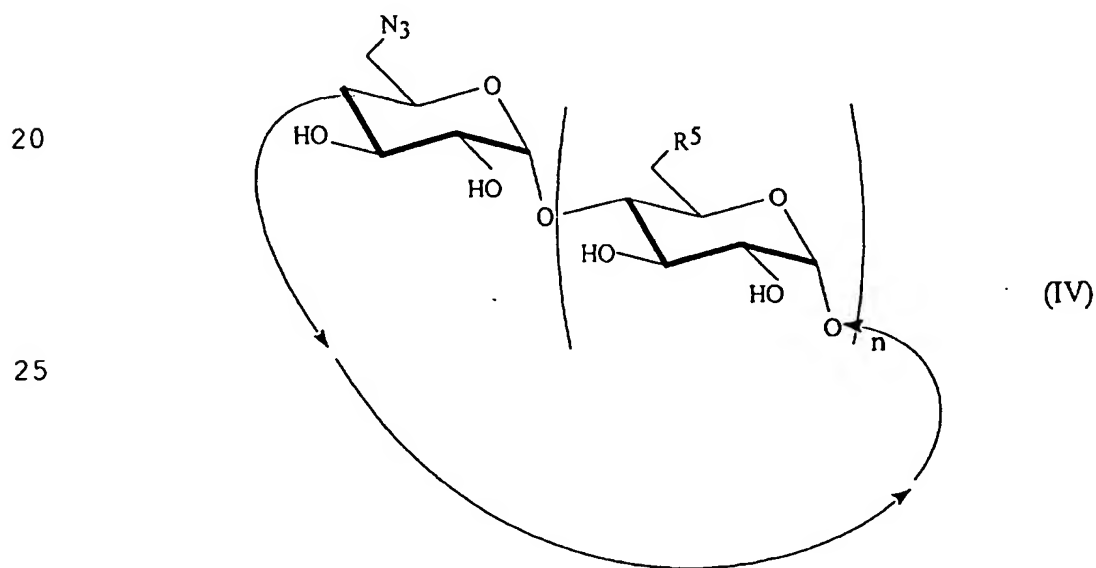
deux groupes amido, de 1 à 8 atomes de carbone. On obtient de bons résultats avec deux atomes de carbone, soit avec m égal à 2.

Les dérivés de cyclodextrine de l'invention peuvent être des dérivés de l' α -, β - ou γ -CD. De préférence, on utilise les dérivés de la β -CD ce qui correspond dans la formule (I) donnée ci-dessus au cas où n est égal à 6.

Les dérivés de cyclodextrine de l'invention peuvent être préparés par des procédés classiques à partir des dérivés mono-azido ou diazido de cyclodextrines correspondants.

Dans le cas où l'on veut préparer un dérivé de formule (I) tel que défini ci-dessus avec R^3 représentant un atome d'hydrogène, le procédé comprend les étapes suivantes :

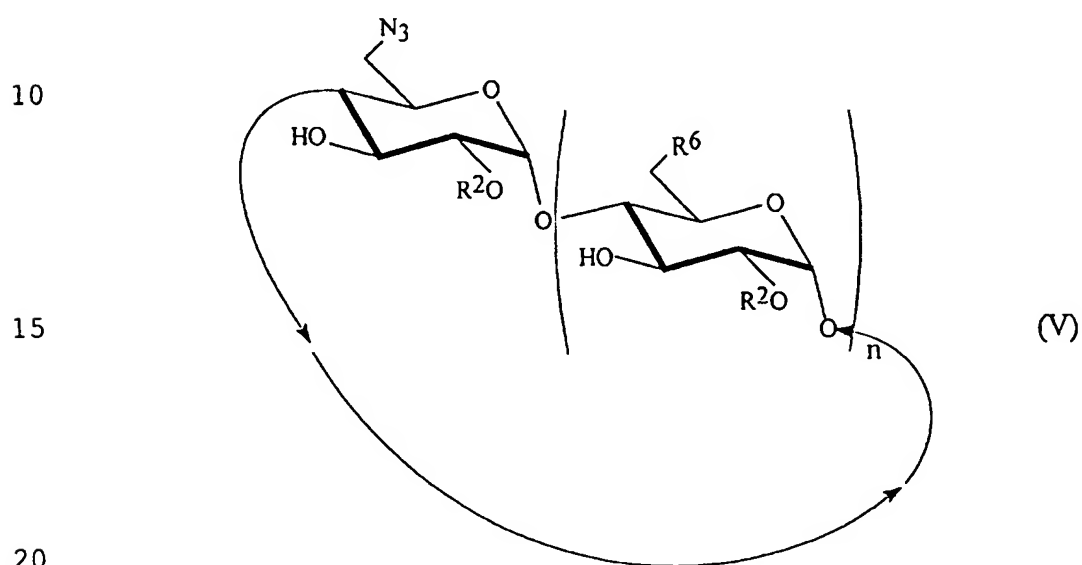
a) faire réagir un dérivé de formule :



dans laquelle tous les R^5 représentent OH , ou l'un des R^5 représente $-N_3$ et les autres R^5 représentent OH à

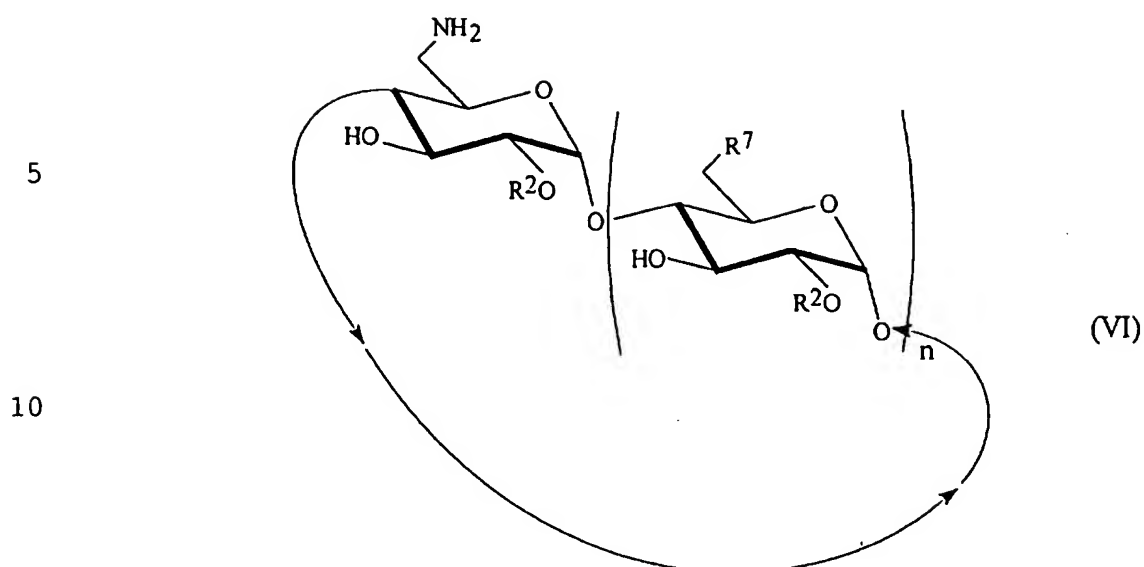
condition qu'il y ait au moins une unité glucose avec R^5 représentant OH entre les deux unités glucose comportant le substituant N_3 , et n est égal à 5, 6 ou 7,

5 avec un sulfate de dialkyle $SO_4R^2_2$ avec R^2 ayant la signification donnée ci-dessus, en milieu basique pour obtenir le dérivé de cyclodextrine de formule :



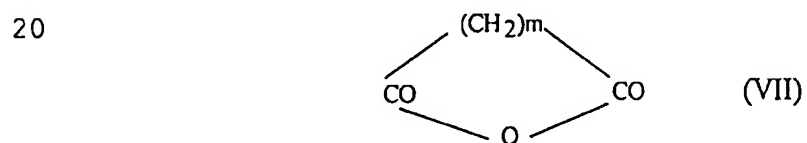
dans laquelle tous les R^6 représentent OR^2 , ou l'un des R^6 représente N_3 et les autres R^6 représentent OR^2 , et R^2 et n sont tels que définis ci-dessus,

25 b) effectuer une réaction de Staudinger sur le dérivé de formule (V) à l'aide de triphénylphosphine et d'ammoniaque pour convertir N_3 en NH_2 et obtenir le dérivé de formule :



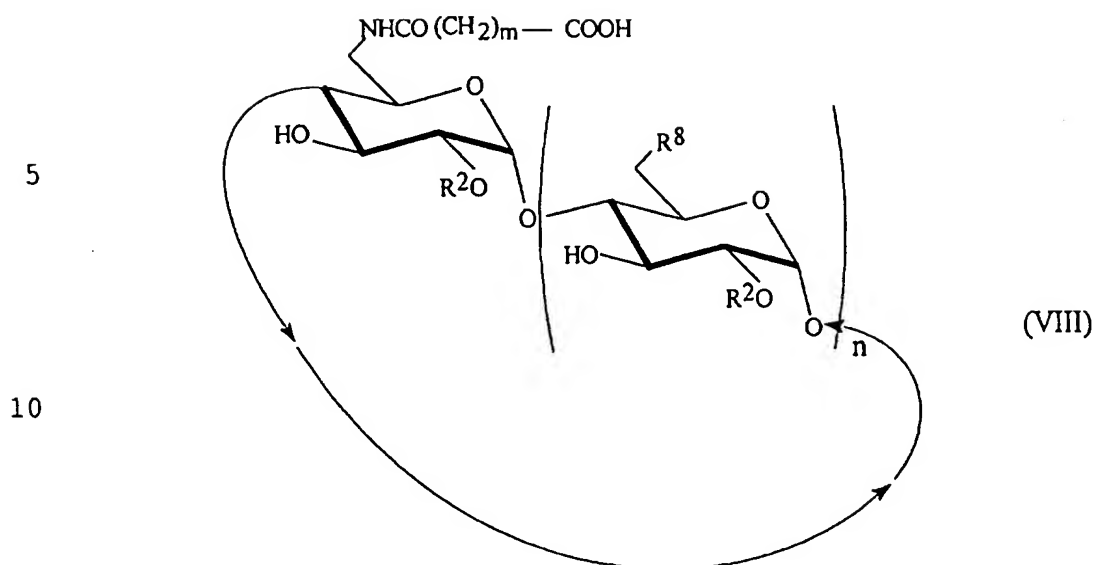
15 dans laquelle tous les R^7 représentent OR^2 , ou l'un des R^7 représente NH_2 et les autres R^7 représentent OR^2 , et R^2 et n sont tels que définis ci-dessus,

c) faire réagir le dérivé de formule (VI) avec un anhydride d'acide de formule :



où m est tel que défini ci-dessus, pour obtenir le

25 dérivé de formule :



15 dans laquelle tous les R^8 représentent OR^2 ou l'un des R^8 représente $-NHCO-(CH_2)_m-COOH$ et les autres R^8 représentent OR^2 , et R^2 , m et n sont tels que définis ci-dessus, et

d) faire réagir le dérivé de formule (VIII)
 20 avec un composé de formule NH_2-R^1 pour obtenir le dérivé de cyclodextrine de formule (I) défini ci-dessus.

Les dérivés monoazido ou diazido utilisés
 comme produit de départ dans le procédé peuvent être
 obtenus à partir du dérivé de cyclodextrine
 25 correspondant monotosylé ou ditosylé par action
 d'azoture de lithium dans l'eau.

Dans l'étape a) du procédé décrit ci-
 dessus, on fait réagir le dérivé de cyclodextrine de
 formule (IV) avec un sulfate de dialkyle $SO_4R^2_2$ dans un
 30 mélange de solvants organiques tels que le
 diméthylformamide (DMF) et le diméthylsulfoxyde (DMSO)
 dans des proportions 50:50 en volume, en présence d'une

base telle que l'oxyde de baryum et l'hydroxyde de baryum, à 8°C. On peut séparer le dérivé de formule (V) ainsi obtenu en utilisant les procédés décrits en détails dans l'exemple 1.

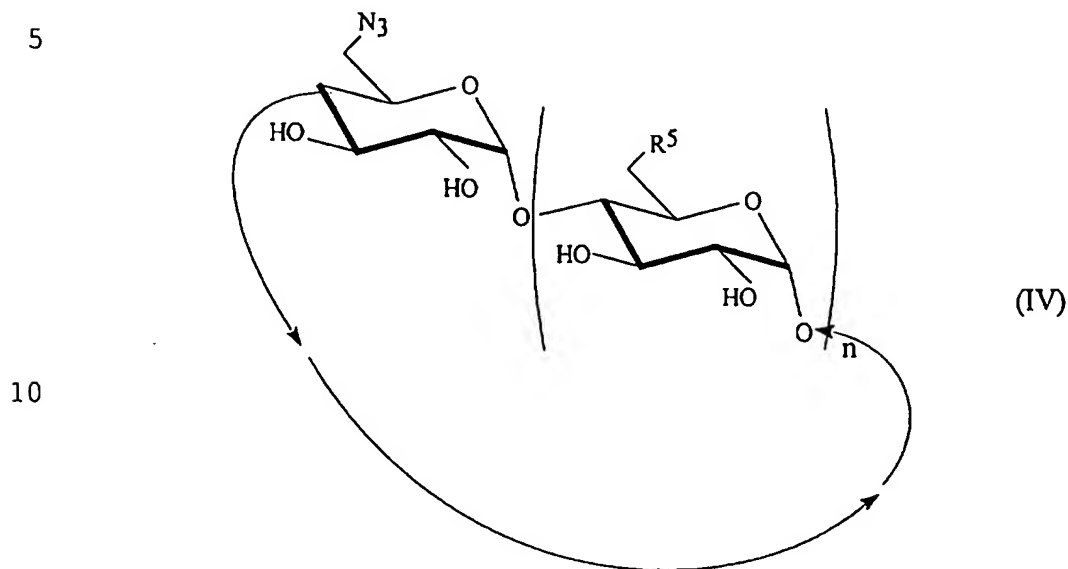
5 Dans l'étape b), on fait réagir le dérivé de formule (V) avec de la triphénylphosphine dans un solvant organique tel que le DMF puis on additionne de l'ammoniaque à 20%. Le dérivé de formule (VI) ainsi obtenu peut être purifié par évaporation du solvant,
10 élimination par filtration du précipité blanc formé puis séparation par chromatographie échangeuse d'ions. Dans l'étape c), on fait réagir le dérivé de formule (VI) avec l'anhydride d'acide de formule (VII) voulu dans un solvant organique tel que le DMF. Le dérivé de
15 formule (VIII) obtenu n'est pas isolé et l'étape d) suivante se fait directement dans le même milieu réactionnel. On additionne alors des réactifs de couplage peptidique tels que le *N,N'*-diisopropylcarbodiimide et l'hydroxybenzotriazole. Le
20 dérivé de formule (VIII) réagit alors avec le composé de formule H_2N-R^1 tel que la cholest-5-èn-3 α -ylamine. On peut séparer le dérivé de formule I ainsi obtenu du milieu réactionnel par évaporation du solvant et purification par chromatographie sur colonne de gel de
25 silice.

Dans le cas où l'on veut préparer un dérivé de formule (I) tel que défini ci-dessus, avec R^3 représentant R^2 , le procédé comprend les mêmes étapes que ci-dessus, mais dans l'étape a), on réalise une

alkylation de tous les groupes OH par un iodoalcane.

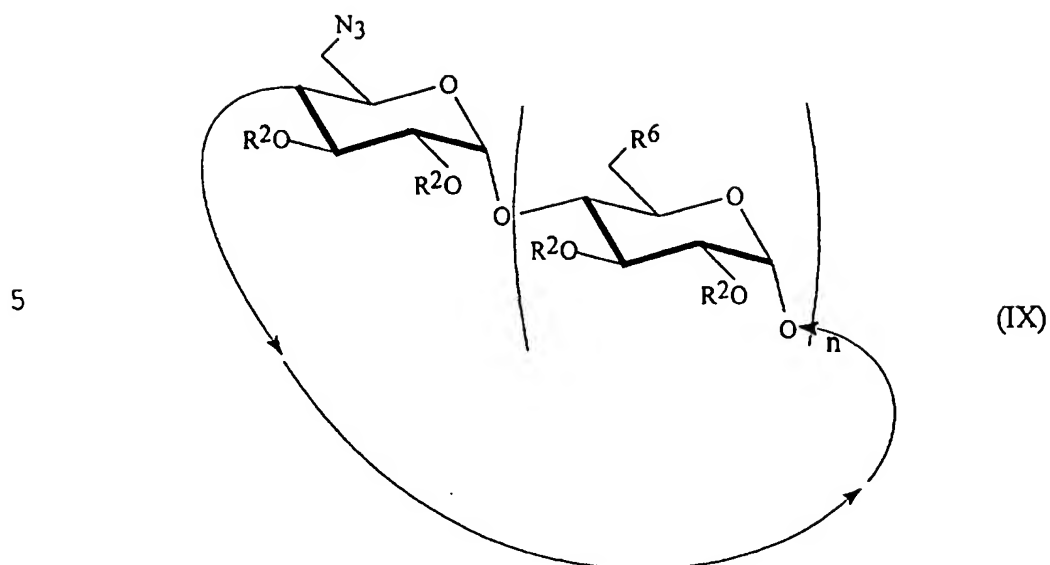
Dans ce cas, on réalise les étapes suivantes :

a) faire réagir un dérivé de formule :



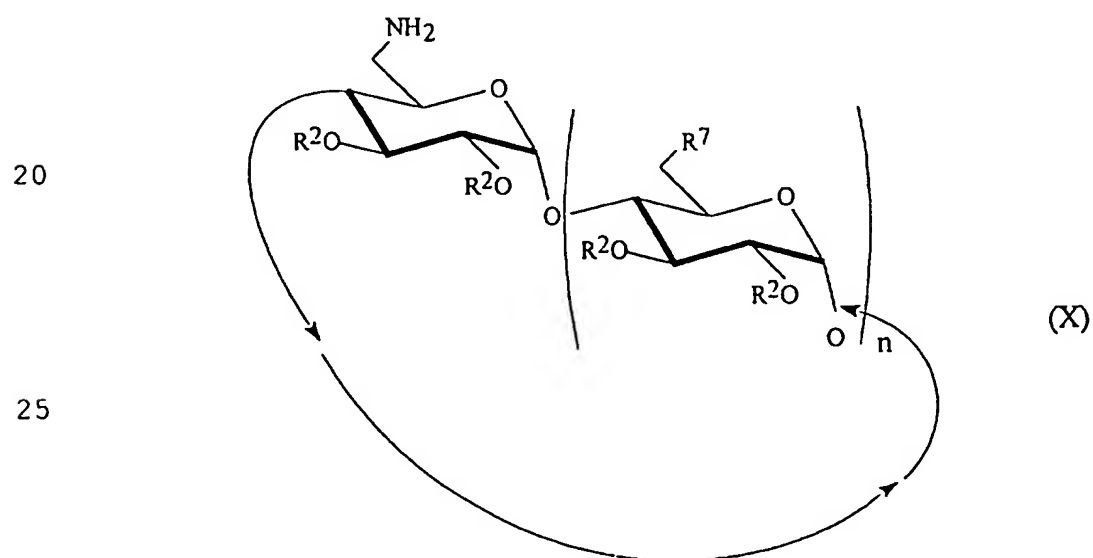
15 dans laquelle tous les R^5 représentent OH, ou l'un des R^5 représente $-N_3$ et les autres R^5 représentent OH à condition qu'il y ait au moins une unité glucose, avec R^5 représentant OH entre les deux unités glucose comportant le substituant N_3 , et n est égal à 5, 6 ou 7,

20 avec un iodoalcane de formule IR^2 dans laquelle R^2 a la signification donnée ci-dessus, en présence de NaH pour obtenir le dérivé de cyclodextrine de formule :



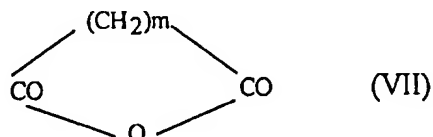
10 dans laquelle tous les R^6 représentent OR^2 , ou l'un des R^6 représente N_3 et les autres R^6 représentent OR^2 , et R^2 et n sont tels que définis ci-dessus,

b) effectuer une réaction de Staudinger sur le
 15 dérivé de formule (IX) à l'aide de triphénylphosphine et d'ammoniaque pour convertir N_3 en NH_2 et obtenir le dérivé de formule :



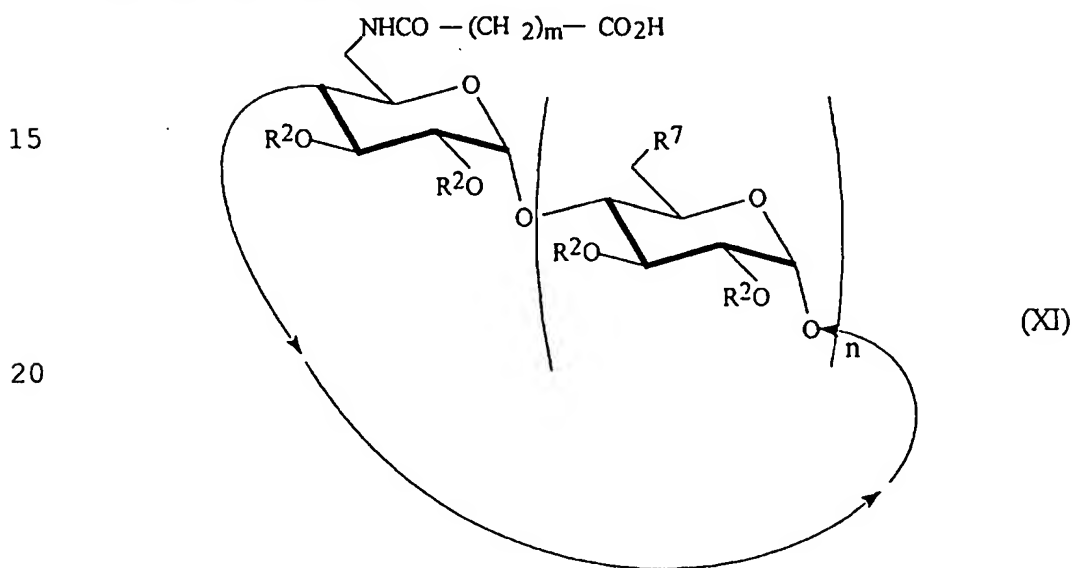
dans laquelle tous les R^7 représentent OR^2 , ou l'un des R^7 représente NH_2 et les autres R^7 représentent OR^2 , et R^2 et n sont tels que définis ci-dessus,

c) faire réagir le dérivé de formule (X) avec
5 un anhydride d'acide de formule :



10

où m est tel que défini ci-dessus, pour obtenir le dérivé de formule :



25

dans laquelle tous les R^7 représentent OR^2 ou l'un des R^7 représente $-NHCO-(CH_2)_m-COOH$ et les autres R^7 représentent OR^2 , et R^2 , m et n sont tels que définis ci-dessus, et

30

d) faire réagir le dérivé de formule (XI) avec un composé de formule $\text{NH}_2\text{-R}^1$ pour obtenir le dérivé de cyclodextrine de formule (I) défini ci-dessus.

L'invention a encore pour objet les complexes d'inclusion du dérivé de cyclodextrine de formule (I) avec un composé hydrophobe en vue de solubiliser ce composé hydrophobe dans un milieu aqueux. Les composés chimiques hydrophobes susceptibles d'être solubilisés dans des milieux aqueux au moyen de ces dérivés de cyclodextrine (I) peuvent être de différents types. A titre d'exemple de tels composés, on peut citer des produits cosmétiques, des vitamines, des molécules pharmaceutiquement actives et des molécules utilisées comme agents de contraste pour l'imagerie médicale, par exemple, les composés décrits par Uekama et Irie dans Chemical Review (1998), 98, pp. 2045-2076 [7].

De préférence dans l'invention, le composé chimique hydrophobe est une molécule pharmaceutiquement active. A titre d'exemples de telles molécules, on peut citer les stéroïdes, par exemple la prednisolone, les neurotropes comme la dothiépine, les bactériostatiques comme le chloramphénicol, les vitamines comme la vitamine A, des toniques de la paroi vasculaire comme l'esculine, et des agents de contraste pour l'imagerie médicale comme l'acide 16-iodo-3-méthylhexadécanoïque.

Ces complexes d'inclusion peuvent être préparés par des procédés classiques, par exemple en ajoutant à une solution ou à une suspension de la cyclodextrine de formule (I) utilisée, une solution du composé hydrophobe dans un solvant organique approprié, par exemple l'acétone.

Les dérivés de cyclodextrine de formule (I) ont la propriété de s'auto-organiser spontanément en milieu aqueux pour donner des nanoparticules de 25 à 30 Å de rayon moyen et de forme parfaitement sphérique.

5 Le nombre moyen de monomères est de 24 molécules de dérivés de cyclodextrine par nanoparticule. Aussi l'invention a également pour objet une solution aqueuse de nanoparticules d'un dérivé de cyclodextrine de formule (I) seul ou sous forme de complexe d'inclusion

10 avec un composé hydrophobe.

Cette solution de nanoparticules peut être préparée en formant une solution aqueuse du dérivé de cyclodextrine ou d'un complexe d'inclusion de ce dérivé ayant une concentration en dérivé ou complexe

15 supérieure à la concentration micellaire critique du dérivé.

L'auto-organisation des cyclodextrines amphiphiles en nanoparticules dans un milieu aqueux, permet d'assurer le transport d'une molécule

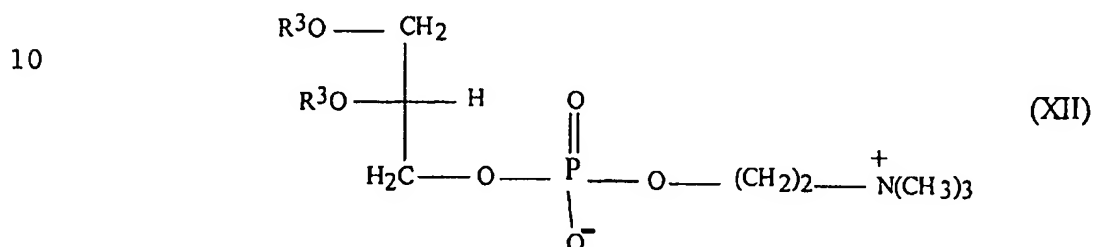
20 hydrophobe, par exemple un principe actif, en particulier par voie transmembranaire ou parentérale.

Les dérivés de cyclodextrines de l'invention sont de plus particulièrement intéressants car ils peuvent être incorporés dans des systèmes

25 organisés de tensioactifs tels que des petites vésicules de phospholipide ou des micelles. Cette incorporation est destinée à permettre la solubilisation de systèmes organisés, en vue d'assurer le transport de principes actifs inclus dans le dérivé

30 de cyclodextrine.

Aussi, l'invention a aussi pour objet un système de tensioactifs organisé comprenant un dérivé de cyclodextrine ou un complexe d'inclusion de ce dérivé conformes à l'invention. Les tensioactifs susceptibles de former de tels systèmes organisés peuvent être de différents types. A titre d'exemple, on peut citer les phospholipides répondant à la formule générale suivante :



dans laquelle R^3 représente $\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_p - \text{CO}$ avec p étant un nombre entier allant de 6 à 18. Ces phospholipides sont capables de former de petites vésicules unilamellaires. C'est le cas en particulier de la dimyristoylphosphatidylcholine (DMPC) qui répond à la formule ci-dessus avec $p = 12$.

Pour incorporer le dérivé de cyclodextrine ou un complexe d'inclusion de ce dérivé conformes à l'invention dans le système organisé de tensioactifs, on peut préalablement former des petites vésicules de DMPC par sonication puis ajouter dans la solution aqueuse le dérivé de cyclodextrine ou le complexe d'inclusion. Le système mixte ainsi obtenu devient alors parfaitement soluble dans l'eau conduisant à une solution limpide. Le système mixte obtenu dans ce cas précis est une micelle mixte d'un rayon moyen de 60 Å.

Aussi l'invention a aussi pour objet une solution aqueuse comprenant en solution un système mixte formé à partir de vésicules de phospholipides ou de protéines membranaires, et d'au moins un dérivé de cyclodextrine ou d'au moins un complexe d'inclusion de dérivé de cyclodextrine conformes à l'invention.

De telles solutions sont intéressantes car elles permettent d'assurer le transport de molécules hydrophobes, par exemple d'un principe actif par voie transmembranaire ou parentérale, pour des applications pharmaceutiques et cosmétiques.

D'autres caractéristiques et avantages de l'invention apparaîtront mieux à la lecture des exemples suivants donnés bien entendu à titre illustratif et non limitatif, en référence aux figures 1 à 5 annexées.

Brève description des dessins

La figure 1 illustre le spectre de diffusion de neutrons expérimental, en échelle logarithmique, d'une solution aqueuse de nanoparticules du dérivé de cyclodextrine obtenu dans l'exemple 1 avec trois courbes théoriques de diffusion de micelles sphériques, de micelles cylindriques et de bicouches.

La figure 2 illustre l'aspect de différents mélanges de cyclodextrine et de phospholipide.

Les figures 3, 4 et 5 illustrent respectivement les spectres de résonance magnétique nucléaire du ^{31}P obtenus à partir de l'échantillon a (figure 3), b (figure 5) et d (figure 4) de l'exemple 3.

5 La figure 6 illustre le spectre de diffusion de neutrons expérimental, en échelle logarithmique, d'un mélange DMPC/dérivé de cyclodextrine (échantillon d) obtenu dans l'exemple 3 avec trois courbes théoriques de diffusion de
10 micelles sphériques, de micelles cylindriques et de bicouches.

La figure 7 illustre les spectres de diffusion de neutrons expérimentaux en échelle logarithmique de mélanges d'acide 16-iodo-3-
15 méthylhexadécanoïque et du dérivé de cyclodextrine de l'exemple 1 (1/1 et 0,5/1 mol) ainsi que le spectre de diffusion de neutron du dérivé de cyclodextrine de l'exemple 1 seul avec la courbe de diffusion théorique de nanoparticules seules.

20 **Exposé détaillé des modes de réalisation.**

**Exemple 1: Synthèse du mono-6-(cholest-5-èn-3 α -ylamido)succinylamido-6-désoxy-2,2',2'',2''',2''''',
2''''',2''''', 6',6'',6''',6''''',6''''',6'''''-
25 tridéca-O-méthyl-cyclomaltoheptaose.**

Ce composé est le dérivé de formule (I) avec R^1 représentant le groupe de formule (III), R^2 étant le groupe méthyle, R^3 représentant H, tous les R^4 représentant OCH_3 , m étant égal à 2 et n étant égal à
30 6.

a) Préparation du mono-6-azido-6-désoxy-2,2',2'',2''',2''''',2''''',2''''',6',6'',6''',6''''',6''''',6''''''-tridéca-O-méthyl-cyclomaltoheptaose.

Dans un ballon, on dissout 2 g (1,7 mmol) de mono-6-azido-6-desoxy-cyclomaltoheptaose (obtenu par exemple selon le protocole décrit dans Tetrahedron Lett. (1993), 34, pp. 2457-2460 [8] et J. Chem. Soc. Perkin Trans 2 (1995), pp. 723-730) [9]) dans 15 mL de diméthylsulfoxyde anhydre. Cette solution est additionnée de 15 mL de diméthylformamide (DMF) anhydre. On ajoute ensuite sous atmosphère d'azote et sous vive agitation, 3,8 g (~12 mmol) d'hydroxyde de baryum octahydraté et 3,6 g (~24 mmol) d'oxyde de baryum. Après homogénéisation du milieu, on ajoute 8 mL de sulfate de diméthyle (~84 mmol), et on laisse sous vive agitation, sous atmosphère d'azote, pendant 30 heures à 8 °C. La suspension d'un aspect laiteux est ensuite additionnée de 5 mL d'ammoniaque à 20 % et agitée pendant 3 heures à température ambiante. On laisse décanter au réfrigérateur pendant une nuit. Après concentration du surnageant sous pression réduite, le solide résiduel est repris avec 100 mL de dichlorométhane, et encore deux fois avec 50 mL de dichlorométhane. Les phases organiques sont rassemblées, lavées 3 fois avec 20 mL d'une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium, 2 fois avec 20 mL d'eau, séchées sur sulfate de magnésium et concentrées sous pression réduite. Le produit est précipité par addition de 100 mL de n-hexane, filtré, lavé avec 100 mL de n-hexane et séché sous vide.

On recueille 0,80 g (0,60 mmol) de mono-6-azido-6-désoxy-2,2',2'',2''',2''''',2''''',2''''',2''''',6',6'',6''',6''''',6''''',6''''''-tridéca-O-méthyl-cyclomaltoheptaose qui se présente sous la forme d'une poudre blanche.

b) Préparation du mono-6-amino-6-désoxy-2,2',2'',2''',2''''',2''''',2''''',6',6'',6''',6''''',6''''',6''''''-tridéca-O-méthyl-cyclomaltoheptaose.

On dissout 0,75 g (0,56 mmol) du composé obtenu en a) dans 30 mL de DMF. A cette solution, on ajoute goutte à goutte et sous agitation à température ambiante 0,75 g (2,86 mmol) de triphénylphosphine dans 5 mL de DMF. Le milieu réactionnel est maintenu à température ambiante pendant 2 heures, refroidi à 0°C et traité par 14 mL d'ammoniaque à 20 %. On laisse 18 heures à température ambiante sous agitation, puis le solvant est éliminé sous pression réduite et le solide résiduel est repris avec 30 mL d'eau. L'abondant insoluble de triphénylphosphine et de l'oxyde correspondant est éliminé par filtration. La solution est concentrée sous vide et le produit est purifié par chromatographie sur colonne de résine échangeuse d'ions (résine Lewatit SP 1080 sous forme H⁺). On recueille 0,35 g (0,27 mmol) de mono-6-amino-6-désoxy-2,2',2'',2''',2''''',2''''',2''''',6',6'',6''',6''''',6''''',6''''''-tridéca-O-méthyl-cyclomaltoheptaose qui se présente sous la forme d'une poudre blanche.

c) Préparation du mono-6-(cholest-5-èn-3 α -ylamido)succinylamido-6-désoxy-2,2',2'',2''',2''''',
2''''',2''''',6',6'',6''',6''''',6''''',6''''''-
tridéca-O-méthyl-cyclomaltoheptaose.

5 A une solution de 0,25 g (0,19 mmol) du composé obtenu en b) dans 6 mL de DMF anhydre, on ajoute sous atmosphère d'azote et sous agitation à température ambiante 0,019 g (0,19 mmol) d'anhydride succinique dans 2 mL de DMF anhydre. Le milieu
10 réactionnel est maintenu à température ambiante pendant 5 heures, puis additionné de 0,11 mL (0,76 mmol) de N,N'-diisopropylcarbodiimide et de 0,028 g (0,19 mmol) d'hydroxybenzotriazole dans 2 mL de DMF anhydre. Après 30 minutes d'agitation à température ambiante, on
15 ajoute 0,089 g (0,23 mmol) de cholest-5-èn-3 α -ylamine (obtenu en deux étapes à partir du cholest-5-èn-3 β -ol selon les protocoles décrits dans Tetrahedron Lett. (1977), pp. 1977-1980 [10]. Le mélange réactionnel est laissé sous agitation à température ambiante pendant 48
20 heures, hydrolysé par addition de 0,30 mL d'eau et concentré sous pression réduite. Le solide résiduel est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (gel de silice 60 Fluka; éluant : CH₂Cl₂-MeOH 95:5 puis 9:1 (v/v)). On recueille 0,24 g de mono-6-
25 (cholest-5-èn-3 α -ylamido)succinylamido-6-désoxy-2,2',
2'',2''',2''''',2''''',2''''',6',6'',6''',6''''',6''''',
6''''''-tridéca-O-méthyl-cyclomaltoheptaose.

(71 % de rendement en composé pur final à partir du mono-6-amino-6-désoxy-2,2',2'',2''',2''''',

2''''',2''''',6',6'',6''',6''''',6''''',6''''''-
 tridéca-O-méthyl-cyclomaltoheptaose).

Les caractéristiques de ce composé sont les
 suivantes :

- 5 - Chromatographie sur couches minces (Plaques de Silice Merck) $R_f = 0,50$ dans le mélange CH_2Cl_2 -MeOH 9:1 (v/v), révélation par H_2SO_4 10 %.
- Spectrométrie de masse: ESI-MS : $m/z = 1805,95$
 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ pour $\text{C}_{86} \text{H}_{146} \text{N}_2\text{O}_{36}\text{Na}$.
- 10 - RMN ^1H (500 MHz, 25°C, solution 7 mM dans CDCl_3) : attribution par des expériences COSY et COSY relais :
 $\delta = 6,49$ (NH CD), 5,70 (NH Chol), 5,38 (H-6 Chol),
 5,28-4,88 (H-1, OH-3 CD), 4,11 (H-3 Chol), 3,99-3,16
 (H-2, H-3, H-4, H-5, H-6, H-6', OCH_3 CD), 2,60-2,48 (CH_2
 15 succ, H-4 Chol), 2,04-0,68 (H Chol).

Exemple 2: Préparation de nanoparticules de mono-6-
 (cholest-5-èn-3 α -ylamido)succinylamido-6-désoxy-

2,2',2'',2''',2''''',2''''''',6',6'',6''',6''''',6'
 20 ''''',6''''''''-tridéca-O-méthyl-cyclomaltoheptaose.

On prépare des nanoparticules de mono-6-
 (cholest-5-èn-3 α -ylamido)succinylamido-6-désoxy-2,2',
 2'',2''',2''''',2''''''',2''''''',6',6'',6''',6''''',6''''''',
 6''''''''-tridéca-O-méthyl-cyclomaltoheptaose simplement
 25 en formant une solution aqueuse de cette cholestérylcyclodextrine à une concentration supérieure à sa concentration micellaire critique (cmc).

La cmc de la cyclodextrine de l'exemple 1 a été déterminée par des mesures de tension de surface. La valeur de la cmc est de 9.10^{-6} mol/L.

Le diamètre hydrodynamique moyen des nanoparticules a été mesuré par diffusion quasi-élastique de la lumière. La valeur du diamètre moyen (DM) calculée selon l'approximation de Stokes-Einstein basée sur le modèle des sphères parfaites sans interactions est de 0,6 nm (60 Å). L'analyse par diffusion statique de la lumière de solutions aqueuses de nanoparticules à différentes concentrations ($2,5.10^{-3}$, 5.10^{-3} et 10^{-2} mol/L) donne une masse moyenne des agrégats de 43000 g/mol, ce qui correspond à 24 monomères en moyenne par nanoparticule.

La forme parfaitement sphérique ainsi que la taille des nanoparticules ont été confirmées par diffusion de neutrons. Le spectre de diffusion obtenu à partir d'une solution 10^{-2} mol/l dans D_2O du dérivé de cyclodextrine de l'exemple 1 est représenté sur la figure 1 (spectre 1).

Sur la figure 1, on a également représenté les spectres théoriques simulant des sphères (spectre 2), des cylindres (spectre 3) ou des lamelles (spectre 4) formés à partir du dérivé de cyclodextrine de l'exemple 1, à une concentration de 10^{-2} mol/L dans D_2O . La superposition du spectre 2 simulant les sphères avec le spectre expérimental 1 prouve la forme sphérique des agrégats de cholestéryl-cyclodextrine. Ces agrégats sont tapissés à la surface de cavités de cyclodextrines disponibles pour l'inclusion de molécules actives hydrophobes, le cœur étant constitué des groupements

cholestérol. Le spectre théorique simulant les sphères donne un diamètre moyen de 0,5 nm (50 Å) et un nombre moyen de monomères par nanoparticule de 24.

5 **Exemple 3: Préparation des systèmes mixtes de mono-6-(cholest-5-èn-3 α -ylamido)succinylamido-6-désoxy-2,2', 2'',2''',2''''',2''''',2''''',6',6'',6''',6''',6''''', 6''''''-tridéca-O-méthyl-cyclomaltoheptaose et de Di-Myristoyl-Phosphatidyl-Choline (DMPC).**

10 On prépare une suspension aqueuse à $15 \cdot 10^{-3}$ mol/L de DMPC, soit sous la forme de vésicules multilamellaires de grande taille (MLVs), soit sous la forme de vésicules unilamellaires de petite taille (SUVs), en suivant les protocoles de préparation
15 décrits par exemple dans "Liposomes: a practical approach", R.R.C. New Ed., IRL Press, Oxford University Press, 1990 [11]. On ajoute à la suspension de MLVs ou de SUVs de DMPC la cyclodextrine de l'exemple 1 de façon à ce que la concentration finale de la
20 cyclodextrine dans le mélange aqueux cyclodextrine/DMPC soit de $0,5 \cdot 10^{-3}$ ou $2,5 \cdot 10^{-3}$ mol/L.

La figure 2 illustre l'aspect des différents mélanges après 12 h à 25°C. Dans le tube a, il s'agit d'une suspension aqueuse de vésicules
25 unilamellaires de DMPC 15 mM. Les tubes c et d correspondent aux mélanges DMPC/cyclodextrine : $15 \cdot 10^{-3}/0,5 \cdot 10^{-3}$ et $15 \cdot 10^{-3}/2,5 \cdot 10^{-3}$ mol/L respectivement. Le tube b est un tube "témoin" correspondant au mélange DMPC/heptakis(2,6-di-O-méthyl)cyclomaltoheptaose
30 $15 \cdot 10^{-3}/2,5 \cdot 10^{-3}$ mol/L, soit

un mélange de DMPC avec une cyclodextrine ne comportant pas de substituant stéroïde.

Les différents mélanges sont examinés par spectroscopie RMN du ^{31}P à 81 MHz.

5 La figure 3 représente le spectre correspondant au tube a (DMPC seule).

La figure 4 représente le spectre correspondant au tube d (mélange DMPC/cyclodextrine ; $15.10^{-3}/2, 5.10^{-3}$ mol/L).

10 La figure 5 représente le spectre correspondant au tube b (mélange DMPC/cyclodextrine de l'art antérieur).

L'existence de petites vésicules unilamellaires de DMPC dans le tube a est confirmée sur
15 le spectre de la figure 3, par la présence des deux pics très fins vers 0 ppm correspondant aux phosphores situés à l'intérieur et à l'extérieur des vésicules.

Le spectre de la figure 4 qui correspond à l'échantillon d, parfaitement transparent, se réduit à
20 une seul pic fin centré à 0 ppm, indiquant la présence d'agrégats plus petits que les vésicules unilamellaires du tube a. Le spectre correspondant au tube "témoin" b indique la formation de vésicules plus grandes que les vésicules de départ. Il n'y a pas de réorganisation du
25 milieu avec cette cyclodextrine.

Dans le tube c, la quantité de cyclodextrine de l'invention est trop faible par rapport à la quantité de DMPC pour conduire à une

solution transparente comme dans le tube d. On obtient un mélange biphasique.

Le diamètre hydrodynamique moyen des agrégats mixtes de l'échantillon d a été mesuré par
5 diffusion quasi-élastique de la lumière. La valeur du diamètre moyen (DM) calculée selon l'approximation de Stokes-Einstein basée sur le modèle des sphères parfaites sans interactions est de 13 nm (130 Å).

On examine ensuite l'échantillon d par
10 diffusion de neutrons.

La figure 6 illustre le spectre de diffusion obtenu (spectre 5). Sur la figure 6, on a également représenté les spectres théoriques simulant des sphères (spectre 6), des cylindres (spectre 7) ou
15 des lamelles (spectre 8) formés à partir du mélange DMPC/cyclodextrine de l'exemple 1 avec le rapport $15.10^{-3}/2,5.10^{-3}$ mol/L dans D₂O. La superposition du spectre 6 simulant des sphères avec le spectre expérimental 5 prouve la forme sphérique des agrégats
20 mixtes DMPC/cyclodextrine de l'exemple 1. Ces systèmes sphériques mixtes présentent à la surface des cavités de cyclodextrines susceptibles d'inclure des molécules actives hydrophobes. Le spectre théorique simulant les sphères donne un diamètre moyen de 10,8 nm (108 Å).

Exemple 4: Préparation de complexes d'inclusion du composé mono-6-(cholest-5-èn-3 α -ylamido)succinylamido-6-désoxy-2,2',2'',2''',2''''',2''''',2''''',6',6'',6''',6''''',6''''',6''''''-tridéca-O-méthyl-cyclomaltoheptaose avec diverses molécules actives hydrophobes.

A une solution aqueuse de nanoparticules de mono-6-(cholest-5-èn-3 α -ylamido)succinylamido-6-désoxy-2,2',2'',2''',2''''',2''''',2''''',6',6'',6''',6''''',6''''',6''''''-tridéca-O-méthyl-cyclomaltoheptaose obtenue comme dans l'exemple 2, on ajoute simplement le composé hydrophobe soit directement, soit en solution dans un solvant organique approprié, par exemple l'acétone, qu'on laisse évaporer lentement à l'air libre.

Différentes molécules actives hydrophobes ont été testées et se sont révélées capables de former des complexes d'inclusion avec la cyclodextrine de l'exemple 1. Ainsi, on a solubilisé en milieu aqueux par formation d'un complexe d'inclusion l'acide 16-iodo-3-méthylhexadécanoïque, un acide gras utilisé comme agent de contraste pour l'imagerie médicale qui avait déjà pu être solubilisé dans des cyclodextrines, comme il est décrit dans FR-A-2 726 765 [12].

La figure 7 représente les spectres de diffusion de neutrons obtenus avec :

- la solution de nanoparticules de cyclodextrine de l'exemple 1 et l'acide gras (1 : 0,5 éq. mol) (spectre 9) ;

- la solution de nanoparticules de cyclodextrine de l'exemple 1 et l'acide gras (1 : 1 éq. mol) (spectre 10) ; et

- la solution de nanoparticules de cyclodextrine seule (spectre 11).

Sur cette figure, on a également représenté le spectre théorique (Spectre 12) simulant les sphères.

Sur cette figure, on voit que l'incorporation des molécules d'acide gras dans les nanoparticules de la cyclodextrine de l'exemple 1 entraîne des modifications nettes au niveau des spectres de diffusion. L'intensité $I(q)$ se trouve augmentée. L'intensité $I(q)$ est proportionnelle au volume des nanoparticules. La présence de molécules supplémentaires (molécules d'acide gras) dans les nanoparticules a pour effet d'augmenter la valeur du contraste et donc de l'intensité.

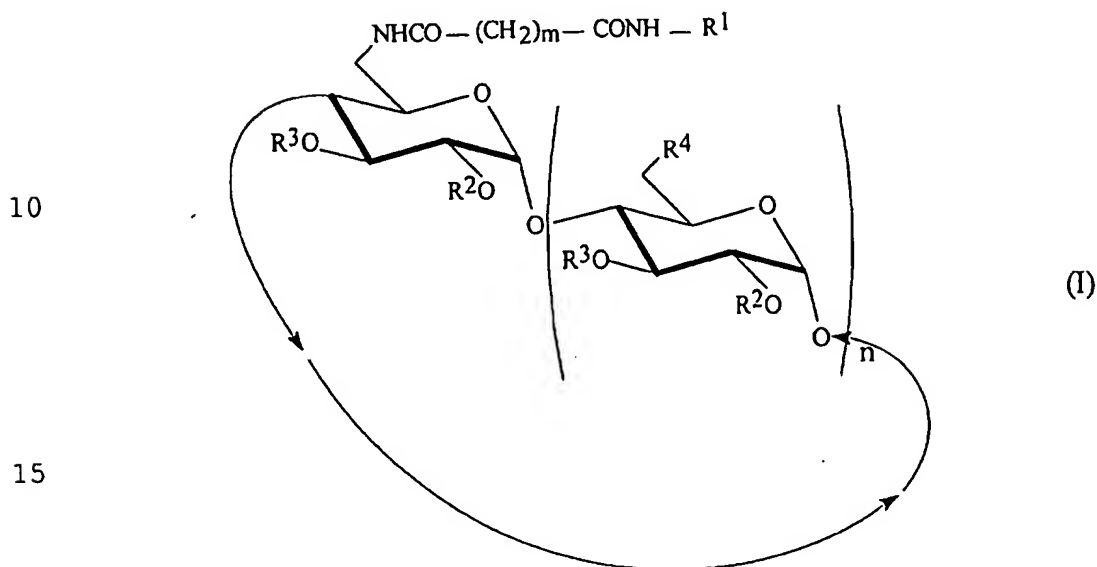
L'incorporation dans les nanoparticules de mono-6-(cholest-5-èn-3 α -ylamido)succinylamido-6-desoxy-2,2',2'',2''',2''',2''',2''',6',6'',6''',6''',6''',6''''-tridéca-O-méthyl-cyclomaltoheptaose des composés hydrophobes suivants :

- la dothiépine (neurotrope),
 - le chloramphénicol (bactériostatique),
 - la vitamine A, et
 - l'esculine (tonique de la paroi vasculaire),
- a également été mise en évidence par diffusion de neutrons.

REVENDICATIONS

1. Dérivé amphiphile de cyclodextrine
répondant à la formule :

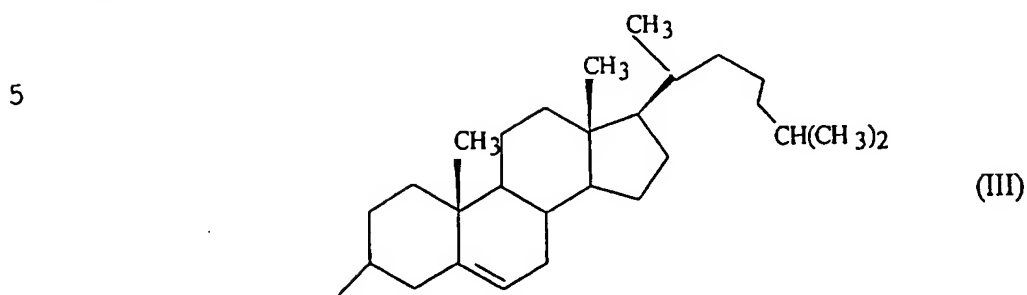
5



dans laquelle :

- R^1 représente un groupe dérivé d'un stéroïde,
- 20 - R^2 représente un groupe alkyle ou aryle éventuellement substitué,
- R^3 représente H ou R^2 ,
- tous les R^4 représentent OR^2 , ou
- l'un des R^4 représente $-NHCO(CH_2)_mCONHR^1$ et les autres
- 25 R^4 représentent OR^2 à condition qu'il y ait au moins une unité glucose avec R^4 représentant OR^2 entre les deux unités glucose comportant le substituant $-NHCO-(CH_2)_m-CONH-R^1$,
- m est un nombre entier allant de 1 à 8, et
- 30 - n est égal à 5, 6 ou 7.

2. Dérivé de cyclodextrine selon la revendication 1 dans lequel R¹ représente le groupe de formule :



3. Dérivé de cyclodextrine selon la revendication 1 ou 2, dans lequel tous les R^4 représentent OR^2 .

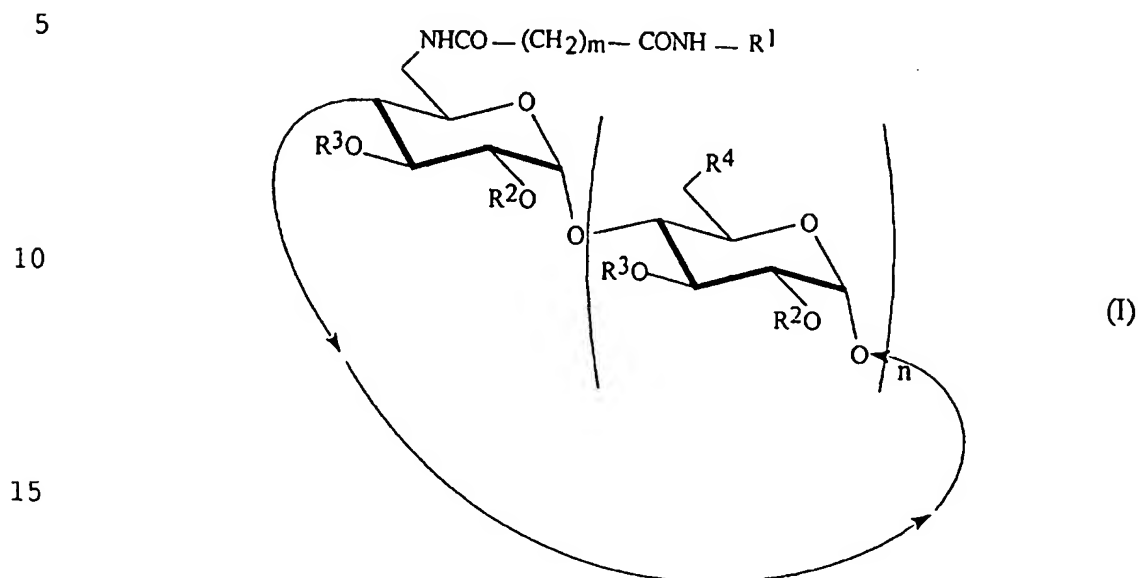
15 4. Dérivé de cyclodextrine selon l'une
quelconque des revendications 1 à 3, dans lequel R²
représente le groupe méthyle et R³ représente un atome
d'hydrogène.

5. Dérivé de cyclodextrine selon l'une
20 quelconque des revendications 1 à 4, dans lequel n est
égal à 6.

6. Dérivé de cyclodextrine selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, dans lequel m est égal 2.

7. Mono-6-(cholest-5-èn-3 α -ylamido) succi-
nylamido-6-désoxy-2,2',2'',2''',2''''',
2''''''',6',6'',6''',6''''',6''''''',6''''''''-tridéca-O-
méthyl-cyclomaltoheptaose.

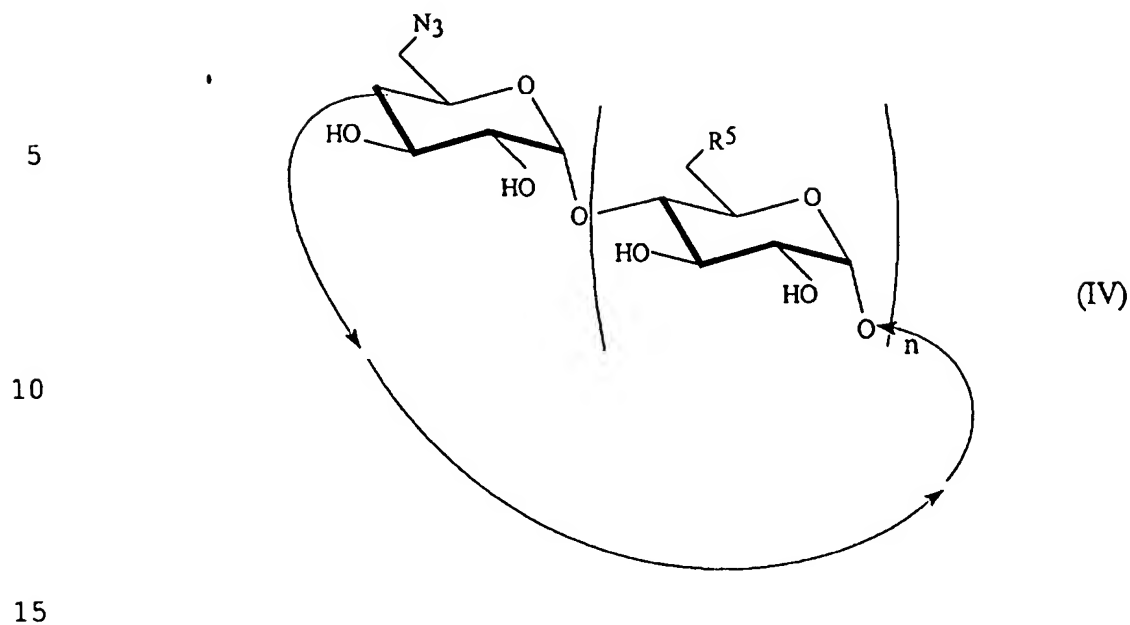
8. Procédé de préparation d'un dérivé de cyclodextrine de formule :



dans laquelle :

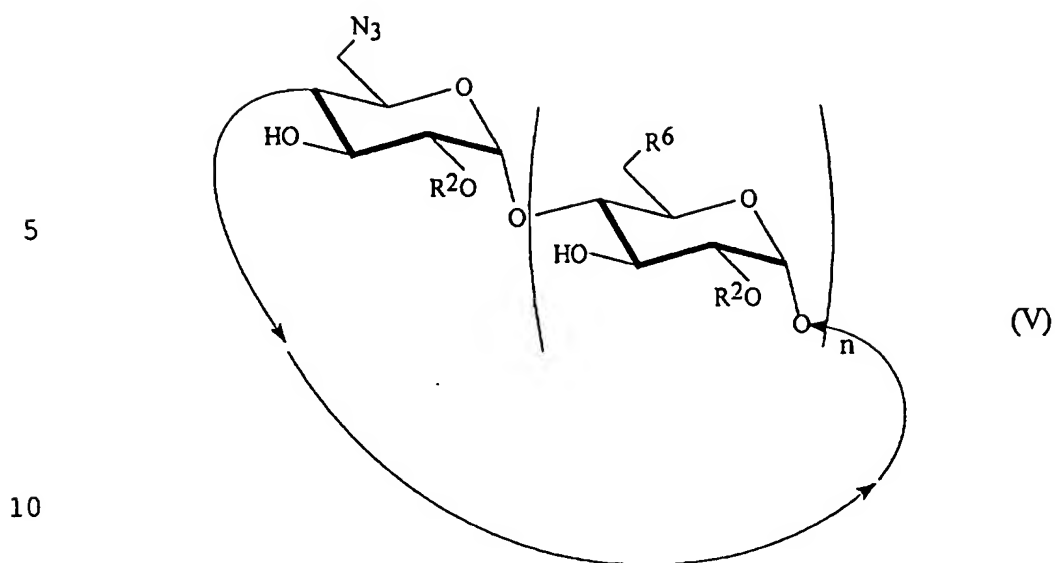
- R^1 représente un groupe dérivé d'un stéroïde,
 - 20 - R^2 représente un groupe alkyle ou aryle éventuellement substitué,
 - R^3 représente H,
 - tous les R^4 représentent OR^2 , ou
 - l'un des R^4 représente $-NHCO(CH_2)_mCONHR^1$ et les autres
 - 25 R^4 représentent OR^2 à condition qu'il y ait au moins une unité glucose avec R^4 représentant OR^2 entre les deux unités glucose comportant le substituant $-NHCO-(CH_2)_m-CONH-R^1$,
 - m est un nombre entier allant de 1 à 8, et
 - 30 - n est égal à 5, 6 ou 7,
- qui comprend les étapes suivantes :

a) faire réagir un dérivé de formule :



dans laquelle tous les R^5 représentent OH, ou l'un des R^5 représente $-N_3$ et les autres R^5 représentent OH à condition qu'il y ait au moins une unité glucose avec R^5 représentant OH entre les deux unités glucose comportant le substituant N_3 , et n est égal à 5, 6 ou 7,

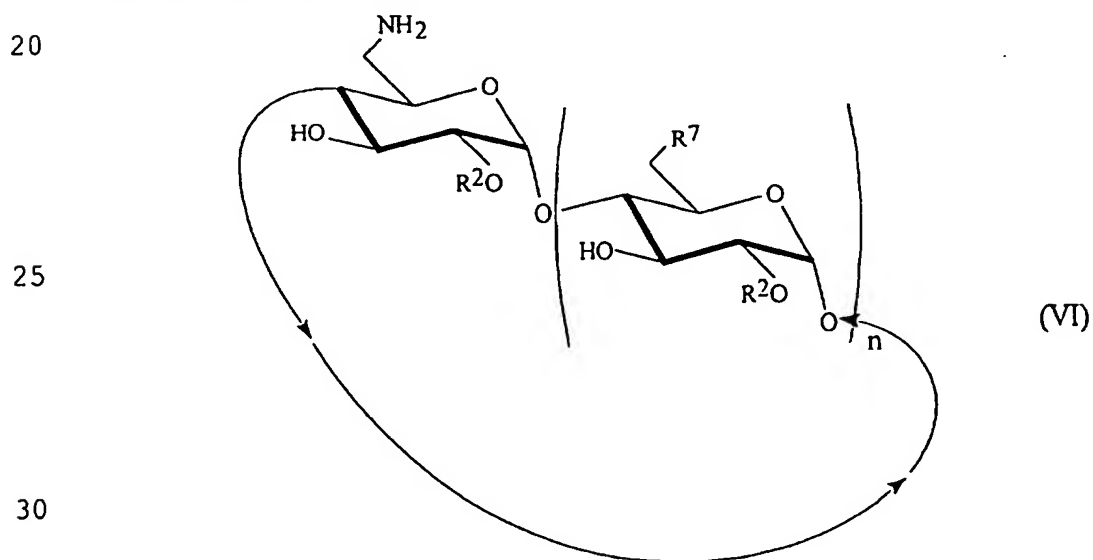
avec un sulfate de dialkyle $SO_4R^2_2$ avec R^2 ayant la signification donnée ci-dessus, en milieu basique pour obtenir le dérivé de cyclodextrine de formule :



dans laquelle tous les R^6 représentent OR^2 , ou l'un des R^6 représente N_3 et les autres R^6 représentent OR^2 , et R^2 et n sont tels que définis ci-dessus,

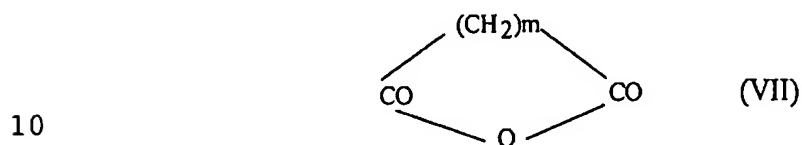
15

b) effectuer une réaction de Staudinger sur le dérivé de formule (V) à l'aide de triphénylphosphine et d'ammoniaque pour convertir N_3 en NH_2 et obtenir le dérivé de formule :

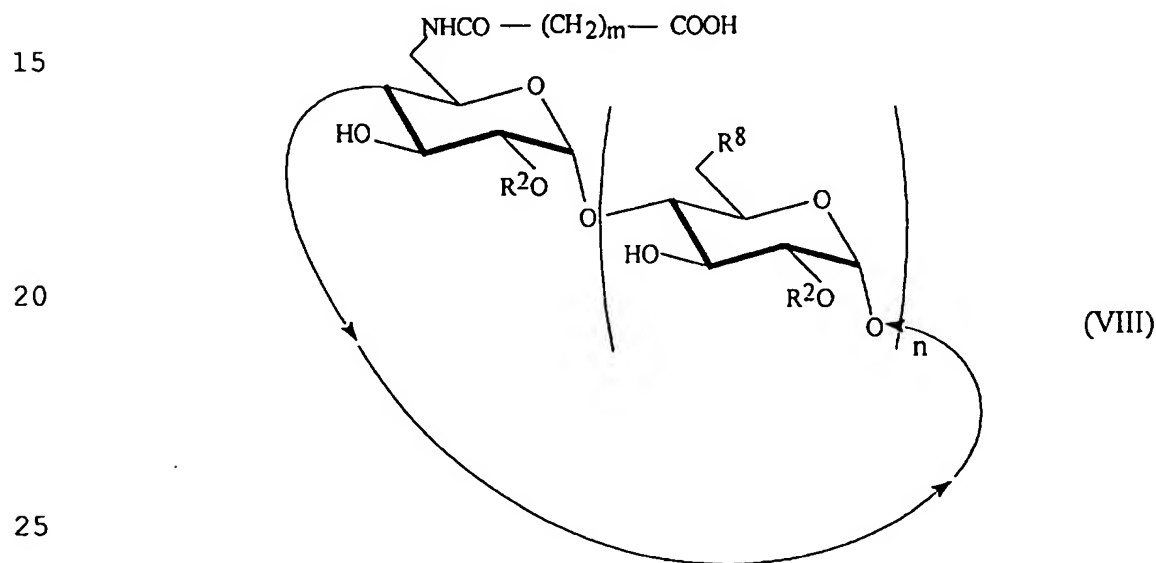


dans laquelle tous les R^7 représentent OR^2 , ou l'un des R^7 représente NH_2 et les autres R^7 représentent OR^2 , et R^2 et n sont tels que définis ci-dessus,

c) faire réagir le dérivé de formule (VI) avec
5 un anhydride d'acide de formule :



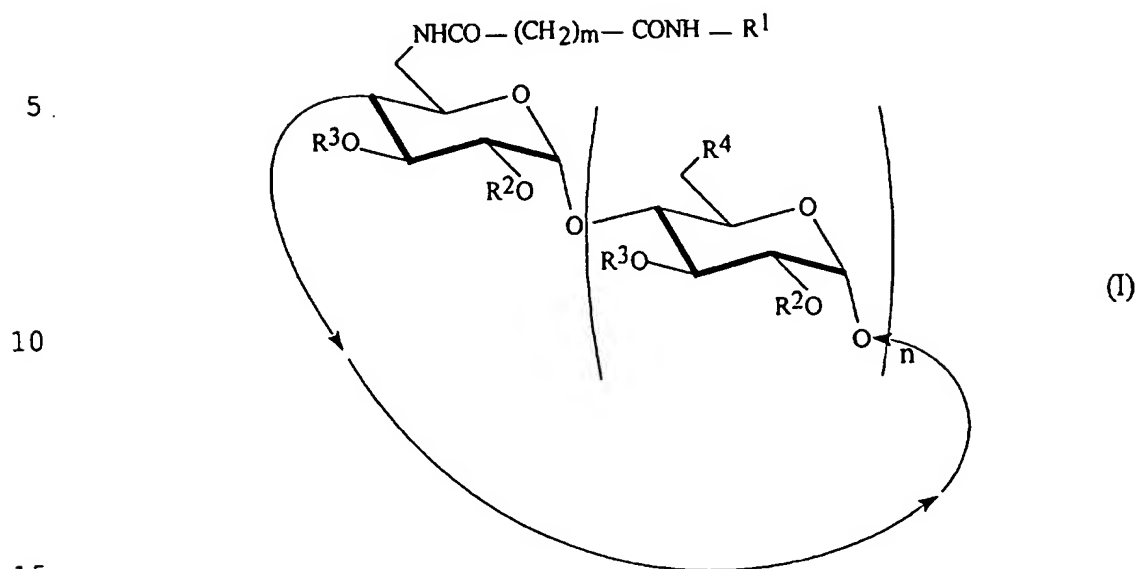
où m est tel que défini ci-dessus, pour obtenir le dérivé de formule :



dans laquelle tous les R^8 représentent OR^2 ou l'un des R^8 représente $-NHCO-(CH_2)_m-COOH$ et les autres R^8 représentent OR^2 , et R^2 , m et n sont tels que définis
30 ci-dessus, et

d) faire réagir le dérivé de formule (VIII) avec un composé de formule NH_2-R^1 pour obtenir le dérivé de cyclodextrine de formule (I) défini ci-dessus.

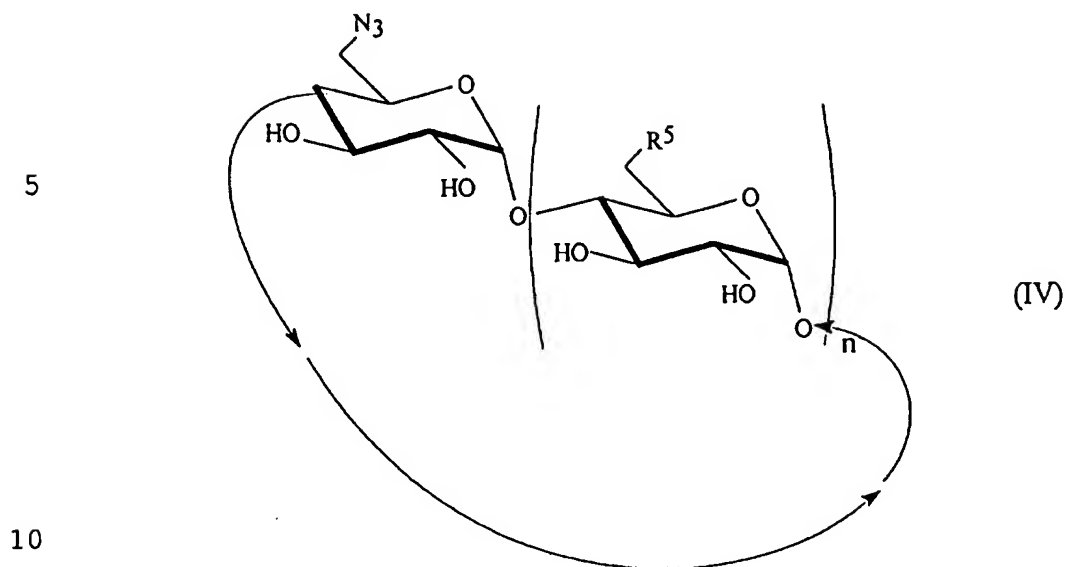
9. Procédé de préparation d'un dérivé de cyclodextrine de formule :



dans laquelle :

- R^1 représente un groupe dérivé d'un stéroïde,
 - R^2 représente un groupe alkyle ou aryle éventuellement substitué,
 - R^3 représente R^2 ,
 - tous les R^4 représentent OR^2 , ou
 - l'un des R^4 représente $-NHCO(CH_2)_mCONHR^1$ et les autres R^4 représentent OR^2 à condition qu'il y ait au moins une unité glucose avec R^4 représentant OR^2 entre les deux unités glucose comportant le substituant $-NHCO-(CH_2)_m-CONH-R^1$,
 - m est un nombre entier allant de 1 à 8, et
 - n est égal à 5, 6 ou 7,
- 30 qui comprend les étapes suivantes :

a) faire réagir un dérivé de formule :

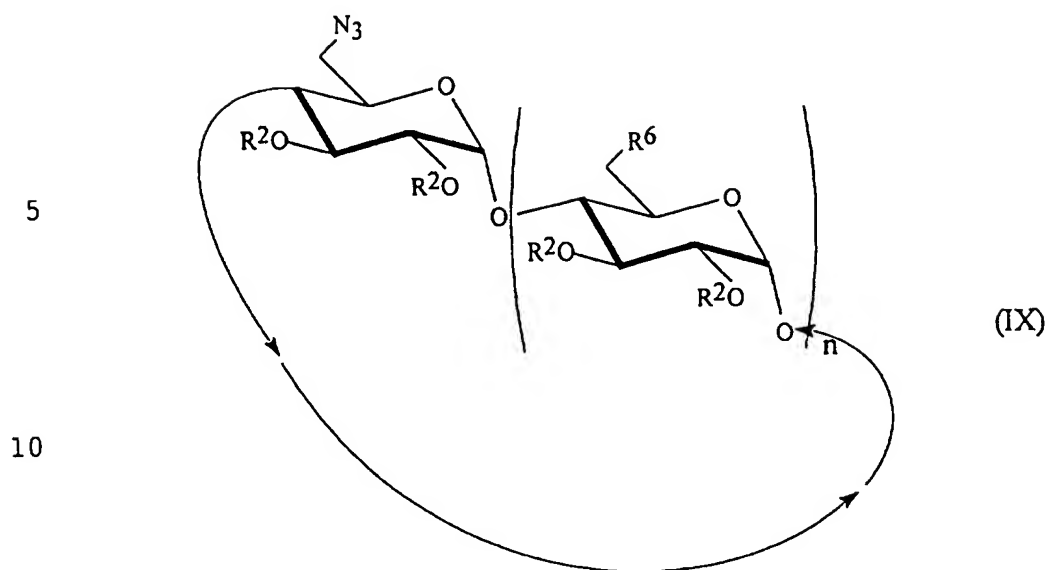


dans laquelle tous les R^5 représentent OH, ou l'un des R^5 représente $-N_3$ et les autres R^5 représentent OH à condition qu'il y ait au moins une unité glucose, avec

15 R^5 représentant OH entre les deux unités glucose comportant le substituant N_3 , et n est égal à 5, 6 ou 7,

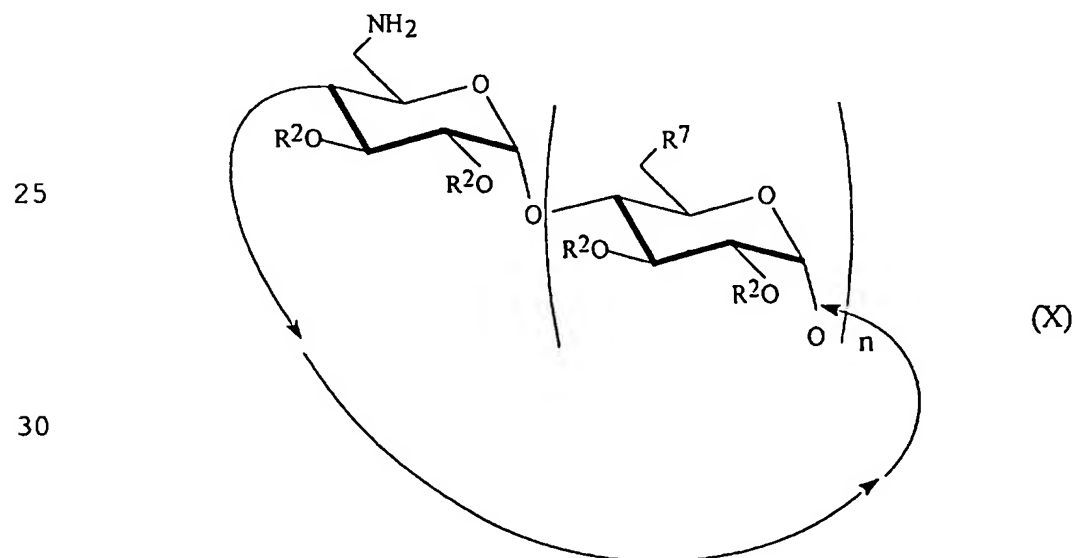
avec un iodo alcane de formule IR^2 dans laquelle R^2 a la signification donnée ci-dessus, en présence de NaH pour

20 pour obtenir le dérivé de cyclodextrine de formule :



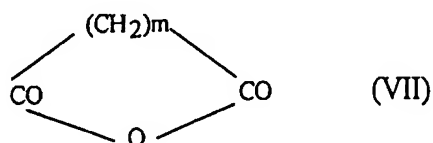
dans laquelle tous les R^6 représentent OR^2 , ou l'un des
 15 R^6 représente N_3 et les autres R^6 représentent OR^2 , et
 R^2 et n sont tels que définis ci-dessus,

b) effectuer une réaction de Staudinger sur le
 dérivé de formule (IX) à l'aide de triphénylphosphine
 et d'ammoniaque pour convertir N_3 en NH_2 et obtenir le
 20 dérivé de formule :

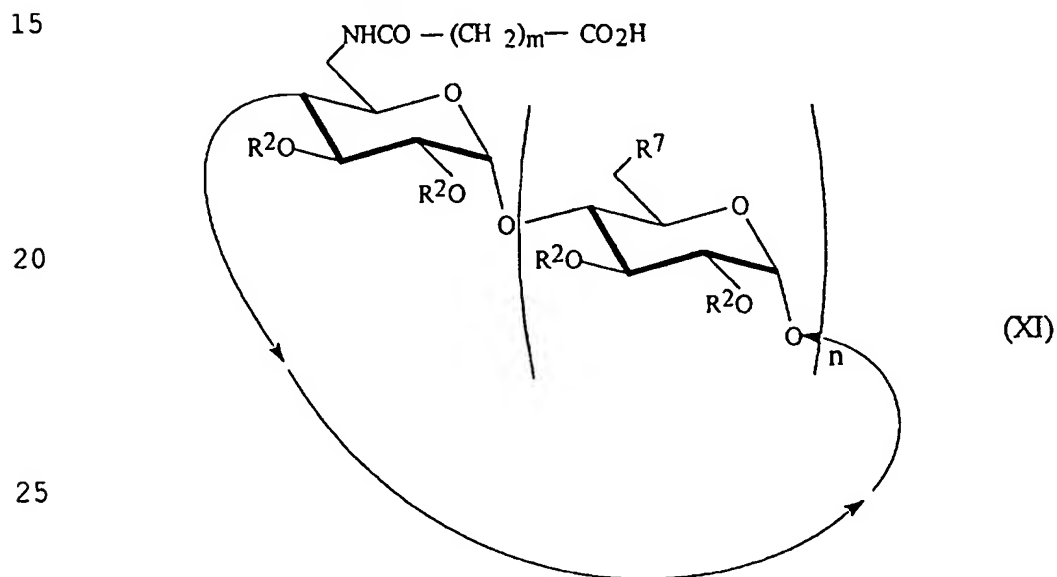


dans laquelle tous les R^7 représentent OR^2 , ou l'un des R^7 représente NH_2 et les autres R^7 représentent OR^2 , et R^2 et n sont tels que définis ci-dessus,

c) faire réagir le dérivé de formule (X) avec
5 un anhydride d'acide de formule :



où m est tel que défini ci-dessus, pour obtenir le dérivé de formule :



dans laquelle tous les R^7 représentent OR^2 ou l'un des R^7 représente $-NHCO-(CH_2)_m-COOH$ et les autres R^7
30 représentent OR^2 , et R^2 , m et n sont tels que définis ci-dessus, et

d) faire réagir le dérivé de formule (XI) avec un composé de formule NH_2-R^1 pour obtenir le dérivé de cyclodextrine de formule (I) défini ci-dessus.

10. Complexe d'inclusion d'un dérivé de cyclodextrine selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, et d'un composé hydrophobe.

11. Complexe selon la revendication 10,
5 dans lequel le composé hydrophobe est choisi parmi les stéroïdes, les neurotropes, les bactériostatiques, les vitamines, les toniques de la paroi vasculaire et les agents de contraste.

12. Complexe selon la revendication 10,
10 dans lequel le composé hydrophobe est choisi parmi l'acide 16-iodo-3-méthylhexadécanoïque, la dothiépine, le chloramphénicol, la vitame A et l'esculine.

13. Solution aqueuse de nanoparticules d'un dérivé de cyclodextrine selon l'une quelconque des revendications 1 à 7 ou d'un complexe d'inclusion selon
15 l'une quelconque des revendications 10 à 12.

14. Système de tensioactifs organisé comprenant un dérivé de cyclodextrine selon l'une quelconque des revendications 1 à 7 ou un complexe
20 d'inclusion selon l'une quelconque des revendications 10 à 12.

15. Système selon la revendication 14 dans lequel le tensioactif est un phospholipide.

16. Solution aqueuse comprenant en solution
25 un système mixte formé à partir de vésicules de phospholipides ou de protéines membranaires, et d'au moins un dérivé de cyclodextrine selon l'une quelconque des revendications 1 à 7 ou d'au moins un complexe d'inclusion selon l'une quelconque des revendications
30 10 à 12.

1 / 3

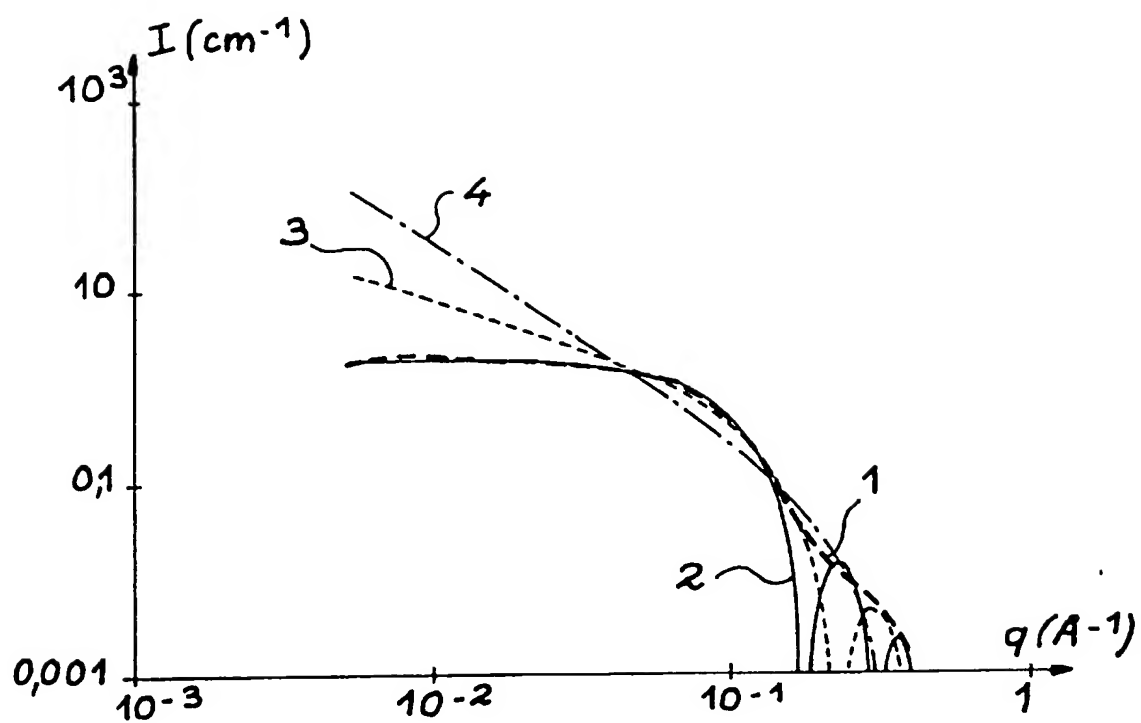
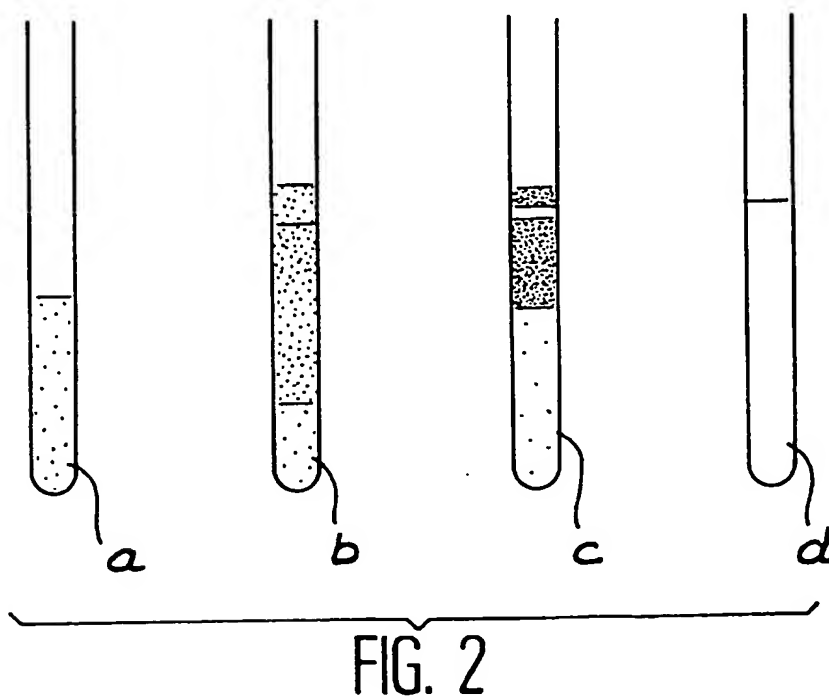


FIG. 1



2 / 3

FIG. 3

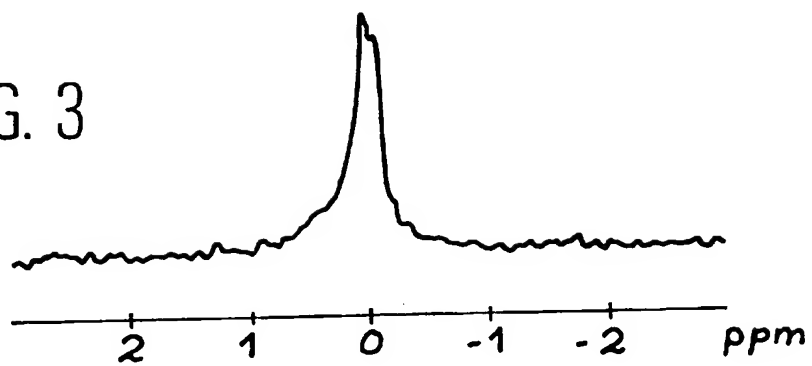


FIG. 4

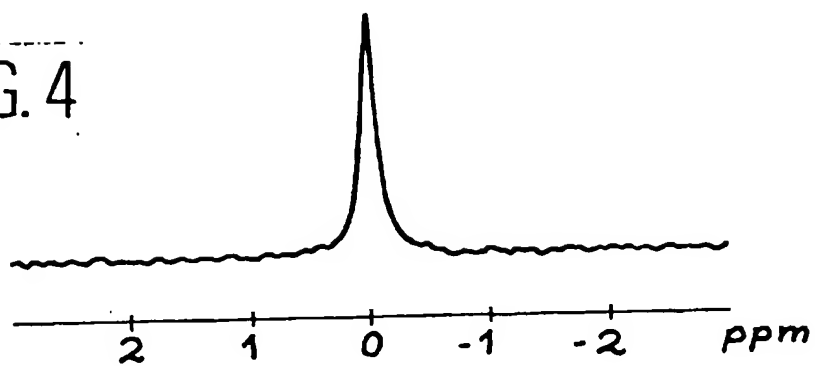
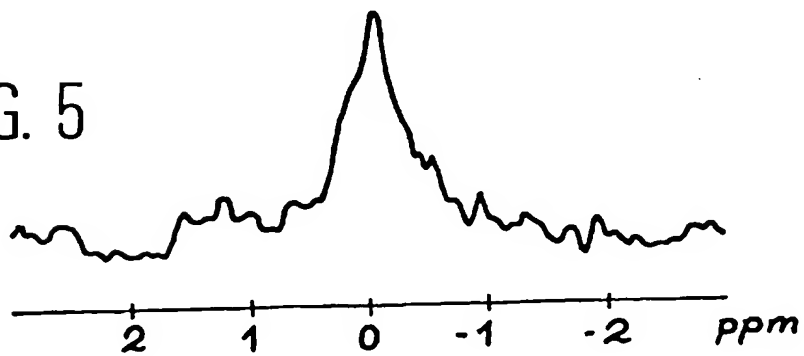


FIG. 5



INSTITUT NATIONAL

de la

PROPRIETE INDUSTRIELLE

RAPPORT DE RECHERCHE
PRELIMINAIREétabli sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

FA 575255

FR 9905460

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
A	FR 2 681 868 A (SEDERMA SA) 2 avril 1993 (1993-04-02) * page 3, ligne 5 - page 4, ligne 5 *	1,8,9
A	EP 0 751 150 A (COMMISARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE) 2 janvier 1997 (1997-01-02)	
D	& FR 2 736 056 A (CEA)	
		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.CL.7)
		C08B
Date d'achèvement de la recherche		Examineur
21 janvier 2000		Mazet, J-F
<p>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant</p>		

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☒ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.